УДК 619:572:636.22/.28

Абакин С.С., Криворучко С.В.
(ГНУ Ставропольский НИИ животноводства и кормопроизводства Россельхозакадемии)

НОВЫЕ ПОДХОДЫ В ДИАГНОСТИКЕ И ОЗДОРОВЛЕНИИ СТАД ОТ ВИРУСОВ ЛЕЙКОЗА И ИММУНОДЕФИЦИТА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Ключевые слова: иммунодефицит, лейкоз, ретровирусы, реакция иммунодиффузии (РИД), полимеразная цепная реакция (ПЦР), колостральный иммунитет.

Вирус иммунодефицита крупного рогатого скота относится к семейству Retroviridae рода Lentivirus, который включает также вирусы иммунодефицита человека, кошек, обезьян, вирус инфекционной анемии лошадей, вирусы артрита-энцефалита коз и висна-меди овец. Особое внимание к вирусу бычьего иммунодефицита вызвано его филогенетической близостью к вирусу иммунодефицита человека-1 (ВИЧ-1), что позволяет использовать ВИКРС в качестве удобной модели для изучения иммунодефицитных состояний животных и человека.

Вирус бычьего иммунодефицита встречается во многих странах мира и часто сопутствует другой ретровирусной инфекции, вызываемой вирусом бычьего лейкоза (ВБЛ). Эпизоотологическая обстановка по оценке сочетанного циркулирования вирусов лейкоза и иммунодефицита в нашей стране практически не изучена, так как последний никогда не служил объектом исследования, а отсутствие диагностических систем не позволяло оценить степень распространения [3]. В связи, с чем возникает острая необходимость в изучение специфики путей передачи, генеза болезни, расшифровки иммунопатологических процессов в больном организме, особенностей патоморфологического проявления, путей и подходов при оздоровлении стад [2].

Работа проведена в лаборатории инфекционных, незаразных болезней и патологии обмена веществ ГНУ СНИИЖК, в хозяйствах Ставропольского края.

Вирусоносительство ВЛКРС у матерей и телят определялось реакциями иммунодиффузии, ИФА и ПЦР; при диагностике ВИКРС использовалась только ПЦР. Изучение формирования иммунитета у новорожденных телят, полученных от инфицированных вирусом лейкоза и иммунодефицита коров, сформированных в 2 опытные группы, продолжалось на протяжении 6 месяцев.

Серологические исследования проводили при помощи набора реагентов для проведения РИД в агаровом геле производства ФГУП «Курская биофабрика – фирма “Биок”»; постановку ИФА - тест-системой производства НПО «Нарвак». Учитывали реакцию на иммуноферментном анализаторе АИФР-01 Униплан с последующим вычислением коэффициента. Динамику титра специфических антител к вирусу лейкоза определяли при помощи последовательных разведений сыворотки крови физиологическим раствором с последующей постановкой РИД и ИФА.

Титр неспецифических антител (иммуноглобулины A, M, G) сыворотки крови исследовали при помощи набора реагентов «ИФА-Бест-стрип» ЗАО «Вектор-Бест» на иммуноферментном анализаторе АИФР-01 Униплан.

Для выделения ДНК использовали наборы реагентов DiatomTM DNA Prep 100 (ООО «Лаборатория Изоген»). Для постановки ПЦР использовали набор реагентов GenPak R DNA PCR test BLV для обнаружения ДНК возбудителя лейкоза крупного рогатого скота (ООО «Лаборатория Изоген»). Полимеразную цепную реакцию для выявления провирусной ДНК ВБИ проводили в оригинальных пробирках «Мастер-Микс» набора GenPak PCR Core (ООО «Лаборатория Изоген»). Праймеры, синтезированные на синтезаторе ASM – 102 (“Биоссет”, Новосибирск) и очищенные посредством электрофореза в ПААГ, были получены от фирмы “ООО Синтол” (Россия).

Материалы исследования анализировали, а числовые показатели обрабатывали в программе BIOSTAT. Различие считалось статистически достоверным, начиная

со значения P≤0,05.

По результатам исследований, проведенных в 5 хозяйствах 4 районов Ставропольского края, из 850 голов крупного рогатого скота исследованных в РИД, 395 прореагировали положительно к ВЛ. Инфицированность поголовья составила 46,5%.

В ПЦР было исследовано 574 головы, из которых у 249 (43,3%) выделена провирусная ДНК к ВЛ. Из 175 животных, исследуемых в ПЦР на наличие вируса иммунодефицита, у 25 (14,3%) была положительная реакция (табл. 1).

Таблица 1 Результаты ПЦР-диагностики вирусов лейкоза и иммунодефицита крупного рогатого скота в хозяйствах Ставропольского края

№ п/п	Хозяйство	Совпадение пол. рез-тов по двум инф-ям, проб	Лейкоз				Иммунодефицит			
			Кол-во проб, гол	+	-	%+	Кол-во проб, гол	+	-	%+
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	ОАО «Урожайное» Новоалександровского района		96	24	72	25,0	-	-	-	-
2	СПК «Полярная Звезда» Кочубеевского района	1	176	85	91	48,2	50	14	36	28
3	СХП «Кубань» Кочубеевского район		143	35	108	24,4	-	-	-	-
4	СХП «Новомарьевский» Шпаковского района	6	112	78	34	69,6	78	6	72	7,69
5	СПКК «Родина» Благодарненского района	5	47	27	20	67,4	47	5	42	10,6
	Всего	12	574	249	325	43,3	175	25	150	14,3

В 3-х хозяйства выявлены ретровирусные инфекции, вызванные как ВИКРС, так и ВЛКРС. Были обнаружены животные (коровы и телята), зараженные обоими вирусами, или одним из них, или свободные от инфекции.

Анализ результатов показал, что у большинства матерей, передавших вирус, на момент отела выпадала реакция иммунодиффузии на наличие антител к ВЛКРС. В настоящее время имеется достаточно данных о том, что существующие серологические методы диагностики, основанные на выявлении антител к вирусным белкам (РИД, ИФА-диагностика), в ряде случаев не дают адекватного ответа о зараженности. Рядом исследователей было показано, что в одном и том же организме при сохранении общего количества зараженных клеток, число клеток, продуцирующих вирусные белки, колеблется о широких пределах в зависимости от иммунологического состояния животного и множества других причин [1]. Количество клеток, продуцирующих вирусные белки, может находиться на столь низком уровне, что заражение животного вирусом лейкоза невозможно определить серологическим методом, что и наблюдается у инфицированных и здоровых коров. Вполне очевидно, что мы сталкиваемся с таким феноменом свойственным ретровирусам, когда провирус находится в «дремлющем» состоянии продолжительное время, после чего активируется с образованием дочерних вирусных частиц. Из образовавшихся вирусных РНК и белков собираются новые вирусные частицы, которые покидают клетку, распространяются и заражают другие клетки.

Высокий процент выделения инфицированного скота побудили нас к проведению серологического исследования по определению титра антител к ВЛ у молодняка до 6тимесячного возраста.

При обследовании телят после дачи молозива было установлено, что у неинфицированных животных титр антител слабо увеличивается, затем следует его снижение, а уже к 4-5 месяцам антитела не обнаруживаются.

Титр антител у инфицированных телят на протяжении 6 мес. исследований нарастал и достиг значений 1:256.

Анализ результатов динамических ис-

следований титра антител телят опытных групп показал, что длительность колострального иммунитета не превышала 110 – 130 дней, то есть к 5 месяцам антитела против ВЛ исчезают и появляется восприимчивость к лейкозной инфекции.

Оценивая состояние естественной резистентности инфицированных новорожденных телят и телят 4-6 месячного возраста и титр неспецифических антител, установлено уменьшение концентрации IgA и M (таб.3).

По нашим данным, содержание иммуноглобулинов различных классов значительно варьирует, особенно заметно превалирует концентрация IgG в сыворотке крови по сравнению с IgM и IgA.

Изменения иммунологических показателей, скорее всего, связаны с формированием иммунной системы телят.

Таблица 3 Иммунологические показатели крови экспериментальных животных

Группа / Показатель	Контроль	1 подгруппа		2 подгруппа	
		1 исслед.	2 исслед.	1 исслед.	2 исслед.
новорожденные телята					
IgA, г/л	0,061±0,01	0,045±0,03*	0,043±0,01	0,029±0,04*	0,039±0,05
Ig M, г/л	0,76±0,06	0,63±0,12*	0,68±0,25	0,52±0,09*	0,58±0,36
IgG, г/л	9,83±0,67	10,98±0,86	9,57±0,35	9,54±0,95	11,22±0,41
телята 4-6 мес.					
IgA, г/л	1,07±0,26	1,06±0,31*	0,94±0,11	1,01±0,19*	1,05±0,23
Ig M, г/л	1,29±0,21	1,27±0,17*	1,25±0,14*	1,21±0,34*	1,29±0,24
IgG, г/л	13,48±0,73	12,79±1,01*	12,65±0,35*	11,35±0,95*	12,12±1, 37

Очевидно, что после элиминации колостральных антител из организма телят, которые выполняли защитную функцию, происходит инфицирование вирусом лейкоза. Учитывая, что молозиво является единственным источником иммуноглобулинов, а, следовательно, и специфической резистентности, необходимо создавать такие условия содержания и кормления стельных коров, чтобы добиться увеличения выхода молозива с высоким уровнем иммуноглобулинов и широкой противомикробной специфичностью.

Результаты наших исследований дают возможность предположить, что телята, имеющие от рождения до 4 - 5 месяцев титр антител в пределах 64 128-кратного разведения, являются вирусоносителями и, чтобы не быть причиной заражения свободных от вируса животных, должны удаляться из стада уже в возрасте 4 месяцев. Телят, не обследованных преколострально, но имеющих повышенный титр антител (1:16-1:32) в возрасте 2-3 месяцев, также можно отнести к инфицированным.

Таким образом, проведенные исследования позволяют сказать, что для осуществления оздоровительных мероприятий в инфицированных стадах недостаточно исследований в РИД и ИФА среди взрослого поголовья и молодняка старше 6-месяцев.

Для получения эффективных результатов необходимо исследовать телят от РИД «+» коров, особенно тех, у которых на момент глубокой стельности и отела реакция иммунодиффузии выпадает, в полимеразной цепной реакции на наличие провирусной ДНК с целью отдельного их выращивания и предотвращения перезаражения молодняка.

Для поголовья инфицированного ВИКРС, также необходим контроль в ПЦР, особенно молодняка крупного рогатого скота, т.к. серологическое тестирование для данной инфекции не разработано.

Очевидно, что возникает необходимость продолжить исследовательские работы по усовершенствованию методики диагностики вирусов лейкоза и иммунодефицита крупного рогатого скота.

Резюме: впервые в хозяйствах Ставропольского края установлено наличие сочетанного циркулирования вирусов лейкоза и иммунодефицита, определена интенсивность эпизоотического

процесса, отмечены особенности формирования иммунной системы и восприимчивость у молодняка.

SUMMARY
for the first time in the farms of the Stavropol Territory was established the presence of a combined circulation of leukemia and immunodeficiency viruses, determined the intensity of epizootic process, marked peculiarities of the immune system formation and susceptibility of young animals.

Keywords: immunodeficiency, leukemia, retroviruses, immunodiffusion reaction, polymerase chain reaction (PCR), colostral immunity.

Литература

1. Альтштейн А.Д. Вирусные инфекции и генетическая инженерия А.Д.Альтштейн Биотехнология. 1987. >fe 3. 276 283.
2. Гулюкин, М.И., Симонян, Г.А., Замараева, Н.В. и др. Научные основы профилактики и борьбы с лейкозом крупного рогатого скота /М.И. Гулюкин, Г.А. Симонян, Н.В. Замараева и др. //Труды ВИЭВ, 1999.-т.72.- С.38-46.
3. Федоров Ю.Н., Верховский О.А. Вирус иммунодефицита крупного рогатого скота. / Ветеринария, 1996, № 10.

Контактная информации об авторах для переписки
Абакин Сергей Стефанович – кандидат ветеринарных наук, заведующий отделом ветеринарной медицины;
Криворучко Светлана Васильевна – научный сотрудник лаборатории инфекционных, незаразных болезней и патологии обмена веществ. Тел/факс (8652) 71-70-33; E-mail: gugelika@yandex.ru

УДК . 636. 4: 612. 015. 3
Абакин С.С., Грекова А.А., Мальцев А.Н.
(ГНУ Ставропольский НИИ животноводства и кормопроизводства Россельхозакадемии)

ПРОФИЛАКТИКА МИКОТОКСИКОЗОВ ТЕЛЯТ

Ключевые слова:микотоксикозы, молодняк КРС, обмен веществ, профилактика, гуминовые кислоты.

Введение: Выращивание молодняка, особенно в условиях крупных ферм требует соблюдения определенных технологических условий, основными из которых являются – сбалансированное полноценное кормление, защита от болезней, искусственная регуляция численности. Однако практика ведения продуктивного животноводства показывает, что даже при строгом соблюдении всех условий у молодняка регистрируется стабильно высокая патология желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) различной этиологии в целом и незаразной в частности. Именно по этому, в условиях интенсификации животноводства проблема повышения эффективности лечебно-профилактических мероприятий при желудочно-кишечных болезнях незаразной этиологии является острой для современной ветеринарии.

Серьезную обеспокоенность вызывают случаи токсического отравления животных неизвестной этиологии. Особое внимание уделяется поражению сельскохозяйственных животных микотоксинами. Многие микотоксины обладают иммуногепатодепрессантным, мутагенным и канцерогенным свойствами, изменяя химическую структуру, переходят в продукты животноводства вследствие чего, возникают отравления людей.

В связи с тем, что практически невоз-